Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Spektrophotometrische Untersuchungen über Nitrit-Methämoglobin und Stickoxyd-Hämoglobin

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von
Reinhard Stumpf
aus Coburg

1962

~~1961~~ Nr 149

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

Herrn Professor Dr. Dr. Weinig danke ich an dieser Stelle ergebenst für die freundliche Überlassung des Themas.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Privatdozent Dr. Schwerd für seine vielfältigen Anregungen und seine gütige Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Arbeit.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Dekan: Professor Dr. G. Hegemann

Referent: Privatdozent Dr. W. Schwerd

Correferent: Professor Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 1. 1962

Sonderdruck

Blut ZEITSCHRIFT FÜR BLUTFORSCHUNG
Band VII · Seite 341—348 (1961) · J. F. LehmannsVerlag, München

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig)

Spektrophotometrische Untersuchungen über Nitrit-Methämoglobin und Stickoxyd-Hämoglobin

Von W. Schwerd und R. Stumpf

Unter den Methämoglobin-Bildnern nimmt das Nitrit eine besondere Stellung ein, da es den Blutfarbstoff nicht nur zum Methämoglobin (Hämiglobin) oxydiert, sondern auch, im Überschuß zugesetzt, mit dem Met-Hb eine eigene Verbindung eingeht. Es bildet sich das Nitrit-Methämoglobin (Abb. 1).

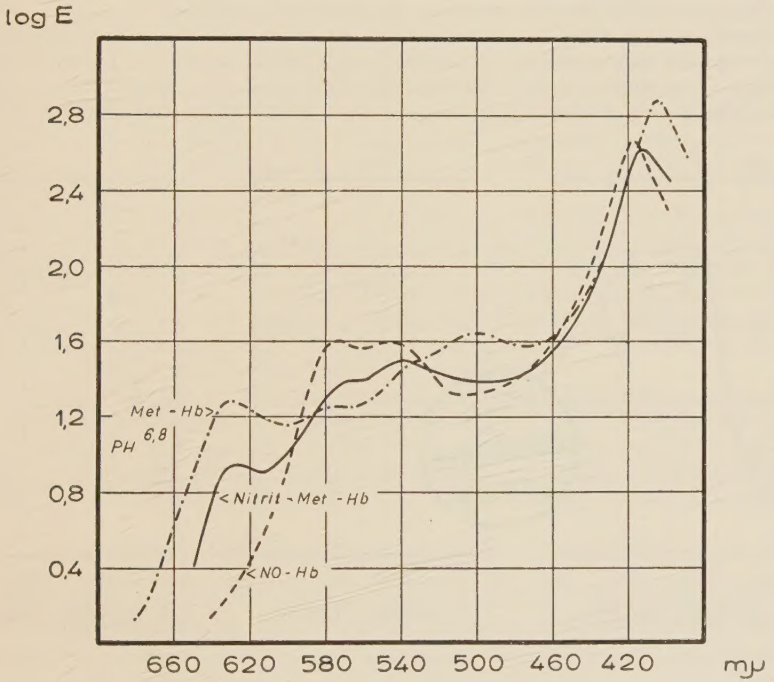

Abb. 1

Die Veränderung der Farbtones einer Met-Hb-Lösung bei Nitritzugabe hat *Kobert* schon 1881 festgestellt. Die Farbe wechselt von braun nach braunrot. Diese braunrote Flüssigkeit weist eine vom dem Met-Hb-Spektrum abweichende Absorptionskurve auf. Die neue Verbindung nannte *Kobert* «Nitrit-Methämoglobin».

Bei der Met-Hb-Bildung durch Nitrit handelt es sich um eine gleichzeitige Oxydation von Nitrit zu Nitrat und von Hämoglobin zu Met-Hb, bei der ein Teil des locker gebundenen

Eingegangen am 19. Januar 1961.

Sauerstoffs für die Oxydationen verbraucht wird. Nach der zur Zeit anerkannten Summenformel

$$NaNO_2 + 2O_2Hb + H_2O \rightarrow NaNO_3 + 2\,HbOH + O_2$$

werden von einem Molekül Nitrit zwei Äquivalente (oder ½ Molekül) O_2-Hb in Met-Hb umgewandelt (*Betke*).

Die *Kobert*sche Ansicht, daß es sich bei dem Nitrit-Met-Hb um eine eigene Verbindung handelt, wurde von *Haldane* bezweifelt. Er hielt das nach Einwirkung von Kaliumnitrit auf den Blutfarbstoff entstehende Produkt für ein Gemisch aus Met-Hb und Stickoxyd-Hb.

Das *Stickoxyd-Hb* (NO-Hb) ist eine Verbindung, die schon bald nach der Entdeckung des Blutfarbstoffspektrums durch *Hoppe* (1862) von *Hermann* (1865) gefunden wurde. Es bildet sich bei Abwesenheit von Sauerstoff durch Einwirkung von NO auf Hb. Man kann es auch durch Reduktion eines Gemisches von O_2-Hb und Natriumnitrit durch Natriumdithionit (oder andere Reduktionsmittel) erhalten (Abb. 1 und 2).

Nach den Beobachtungen von *Haldane*, *Makgill* u. *Mavrogordato* (1897), *Meier* (1925) und insbesondere von *Laves* (1928) tritt Stickoxyd-Hb bei Aufbewahrung des Blutes von Tieren auf, die mit Nitrit oder nitrosen Gasen vergiftet wurden. Im lebenden Organismus findet man Nitrit-Met-Hb und NO-Hb bei solchen Vergiftungen nicht, weil sie erst nach vollständiger Umwandlung des Hb in Met-Hb, die nicht überlebt wird, auftreten.

Gerichtsmedizinisch ist die Verwechslungsmöglichkeit des NO-Hb mit dem CO-Hb bei der spektroskopischen Untersuchung von Bedeutung (*Banham*, *Haldane* u. *Savage*, *Laves*). Das zweigipflige Absorptionsspektrum des NO-Hb ähnelt demjenigen des O_2-Hb und CO-Hb und bleibt ebenso wie das letztere bei Zugabe eines Reduktionsmittels erhalten (Abb. 2)*.

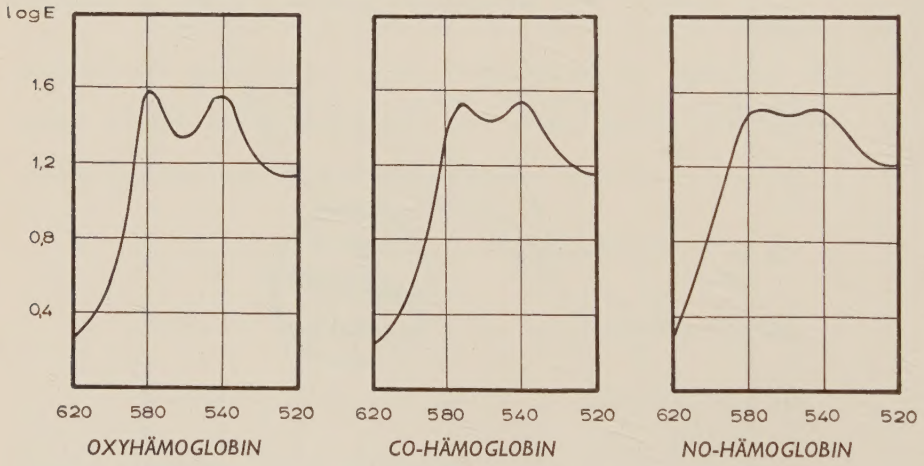

Abb. 2

Die Ansicht von *Haldane*, daß Nitrit-Met-Hb ein Gemisch aus Met-Hb und NO-Hb sei, wurde von *Haurowitz*, *R. Meier*, *Drabkin* u. *Austin* geteilt, während zunächst *Hartridge* (1920) und später *Jung* u. *Remmer* (1949) darauf hinwiesen, daß das Nitrit-Met-Hb eine eigene Verbindung ist. *Jung* u. *Remmer* bewiesen dies auf Grund folgender Feststellungen:

Bei saurer Reaktion (pH nicht angegeben) ändert eine Lösung von Nitrit-Met-Hb zum Unterschied von einer NO-Hb-Lösung ihre Farbe, es bildet sich ein Verdoglobin. Der Zusatz von Natriumdithionit führt Nitrit-Met-Hb schlagartig ins NO-Hb über. Der Zusatz von Kaliumferricyanid bewirkt auch nach längerer Zeit keine Umsetzung des Nitrit-Met-

* Auch bei spektrophotometrischen Verfahren stört NO-Hb den CO-Hb-Nachweis, nicht dagegen bei chemischen Methoden, wie z. B. bei der *Wolff*schen Probe (*Schwerd* 1955).

Hb, während es beim NO-Hb innerhalb von etwa 24 Stunden zur Met-Hb-Bildung kommt. Der Zusatz von KCN zu Nitrit-Met-Hb ergibt Cyan-Met-Hb, während es auf NO-Hb keinen Einfluß hat.

Eigene Untersuchungen

Bei experimentellen Studien zum Nachweis von *Nitrit-Met-Hb und NO-Hb* fiel uns auf, daß Lösungen von NO-Hb im Reagenzglas nach einigen Stunden ihre Farbe änderten. Die rote Farbe wich einem bräunlich-roten Farbton. Da von *Jung und Remmer* auf die Beständigkeit des NO-Hb hingewiesen wurde, führten wir zur Klärung dieser Frage Reihenversuche unter verschiedenen Bedingungen durch.

Herstellung des Nitrit-Met-Hb und des NO-Hb

Das Nitrit-Met-Hb bereiteten wir im wesentlichen nach Angaben von *Schumm*. Aus gewaschenen Frischbluterythrozyten wurde durch Hämolyse mit aqua dest. eine Hb-Lösung hergestellt, deren Hb-Konzentration etwa der des Blutes unter physiologischen Verhältnissen entsprach. Diese Hb-Lösung wurde 1 : 100 mit aqua dest. verdünnt und zur Entfernung der Stromata *scharf* zentrifugiert. 99 Teile dieser nunmehr völlig klaren Hb-Lösung wurden mit 1 Teil 1%iger wässeriger Kaliumferricyanid-Lösung versetzt, worauf sich die Lösung im Verlauf mehrerer Minuten infolge von Met-Hb-Bildung braun färbte. Etwa 10 min. später wurden gleiche Teile einer 10%igen Natriumnitritlösung zugesetzt, es erfolgte augenblicklich ein Farbumschlag nach braunrot. Nach *Schumm* soll der auf diese Weise entstandene Farbstoff Nitrit-Met-Hb sein.

Diese Farblösung wurde nunmehr nach Zusatz von etwa 20% Phosphatpuffer pH 6,8 (0,2 m) spektrophotometrisch gemessen. Hierbei erhielten wir den in Abb. 1 (ausgezogene Kurve) wiedergegebenen Absorptionsverlauf, sofern die spektrophotometrische Messung innerhalb der ersten 20 min.* nach Nitritzusatz erfolgte. Diese Absorptionskurve stimmt im wesentlichen mit der von *Jung* u. *Remmer* angegebenen Nitrit-Met-Hb-Kurve überein. Derselbe Befund wurde auch dann erhoben, wenn anstelle einer Met-Hb-Lösung eine O_2-Hb-Lösung gleicher Konzentration mit Nitrit versetzt wurde.

Nach Zusatz von etwas Natriumdithionit zu der frisch hergestellten Nitrit-Met-Hb-Lösung (etwa 10 mg Dithionit auf 5 ml Farbstofflösung) erfolgt ein Farbumschlag von braunrot nach rot. Spektrophotometrisch tritt nun eine zweigipflige Kurve (Abb. 1, gestrichelte Kurve) in Erscheinung, die der des NO-Hb entspricht (vgl. *Jung* u. *Remmer*). Nitrit-Met-Hb wird durch Natriumdithionit zu NO-Hb reduziert (vgl. auch *Lemberg* u. *Legge*).

Nitrit-Met-Hb, eine Verbindung sui generis?

In Abb. 1 haben wir außer der Absorptionskurve des Nitrit-Met-Hb und der des NO-Hb noch diejenige des Met-Hb bei pH 6,8 eingezeichnet. Daraus ist ersichtlich, daß Nitrit-Met-Hb leicht mit einem Gemisch aus Met-Hb und NO-Hb verwechselt werden kann. Auch rein farblich nimmt es eine Zwischenstellung ein: So ist Met-Hb braun gefärbt, Nitrit-Met-Hb braunrot und NO-Hb rot. In Ergänzung zu den Feststellungen von *Jung* u. *Remmer* erscheint uns die pH-Unabhängigkeit des Nitrit-Met-Hb als ein weiteres Kriterium für dessen Existenz. Met-Hb ist, wie schon *Haurowitz* (1942) nachgewiesen hat, hinsichtlich des Verlaufs seiner Absorptionskurve stark pH-abhängig. Wäre Nitrit-Met-Hb ein Gemisch aus Met-Hb und NO-Hb, so müßte sich die Absorptionskurve mit wechselndem pH-Wert ändern, was nicht der Fall ist.

* Wie weiter unten ausgeführt wird, setzt unter bestimmten Umständen etwa nach ½Std. eine Grünfärbung ein. Es kommt zur Verdiglobinbildung.

Ferner hat die Absorptionskurve des Nitrit-Met-Hb bei 500 mμ eine Einsenkung ähnlich der des NO-Hb, während Met-Hb (pH 6,8) hier ein deutliches Maximum aufweist (Abb. 1). Beim optischen Gemisch (Hintereinanderschalten je einer Küvette mit NO-Hb pH 6,8 und Met-Hb pH 6,8 gleicher Farbstoffkonzentration) tritt dieses Maximum deutlich in Erscheinung. Auch bei anderen optischen Mischungsverhältnissen kann keine mit der Nitrit-Met-Hb-Kurve in allen Punkten übereinstimmende Absorptionskurve erzielt werden.

Das Maximum der Sorèt-Bande des Nitrit-Met-Hb (412,5 mμ) liegt zwischen dem Maximum des NO-Hb (417,5 mμ) und dem des Met-Hb pH 6,8 (405 mμ), doch ist aus der Darstellung der typischen Farbkurven bei Verwendung gleicher Farbstoffkonzentrationen abzulesen, daß das Absorptionsverhältnis des Met-Hb in der Sorèt-Region wesentlich stärker ist als das des Nitrit-Met-Hb und des NO-Hb (Abb. 1). Auch insofern kennzeichnet sich das Nitrit-Met-Hb als eigene Verbindung.

Versuche zur Frage der Veränderlichkeit des NO-Hb

Schumm gibt an, daß sich NO-Hb beim Aufbewahren allmählich in *Hb* umwandle. Diese Veränderung sei zu verhindern, wenn man den Farbstoff im zugeschmolzenen Rohre aufbewahrt. *Jung* u. *Remmer* erklären dagegen, daß das NO-Hb sehr beständig sei, woraus man den Schluß ziehen könnte, daß dieser Farbstoff auch bei der Aufbewahrung im Reagensglas, z. B. bei der Versendung einer entsprechenden Blutprobe zur Untersuchung, haltbar ist.

Wir stellten jedoch fest, daß NO-Hb-Lösungen bei einer Konzentration des Hb von etwa 0,16% beim Stehenlassen im offenen Reagensglas innerhalb von 1 bis 2 Tagen ihre Eigenschaften verändern. Sie gehen nach Farbton und Absorptionskurve wieder ins Nitrit-Met-Hb über. Eine Umwandlung in Hämoglobin, wie sie *Schumm* beschreibt, konnten wir nie beobachten. Erneute Zugabe von Dithionit ergab wieder eine Umwandlung zum NO-Hb, das nach 1–2 Tagen erneut ins Nitrit-Met-Hb übergegangen war. Dieser Vorgang ließ sich meist mehrmals wiederholen, bis schließlich bakteriell bedingte Trübungen zustande kamen, die weitere exakte Messungen vereitelten.

Verdiglobinbildung beim Stehenlassen von Nitrit-Met-Hb-Lösungen

Bei unseren weiteren Versuchen wiesen die an der Luft stehenden Nitrit-Met-Hb-Lösungen (Herstellung siehe oben, Aufbewahrung im Reagensglas bei normalen Tageslichtverhältnissen und Zimmertemperatur – Abb. 3, ausgezogene Kurve) häufig nach Stunden, längstens nach Tagen, *Grünfärbungen* auf. Die spektrophotometrische Untersuchung ergab den in Abb. 3 (gestrichelte Kurve) dargestellten Kurvenverlauf. Nach Reduktion war die in Abb. 3 dargestellte Absorptionskurve (gepunktete Kurve) festzustellen. Offensichtlich kommt es beim Stehenlassen der Nitrit-Met-Hb-Lösungen zu einer Verdiglobinbildung. Das Verdiglobin geht durch Reduktion mit Natriumdithionit ins Verdoglobin über. Wie Abb. 3 zeigt, verlagert sich nach Dithionitzusatz das Maximum im roten Spektralbereich von 615 mμ nach 620 mμ und zugleich wird seine Extinktion stärker.

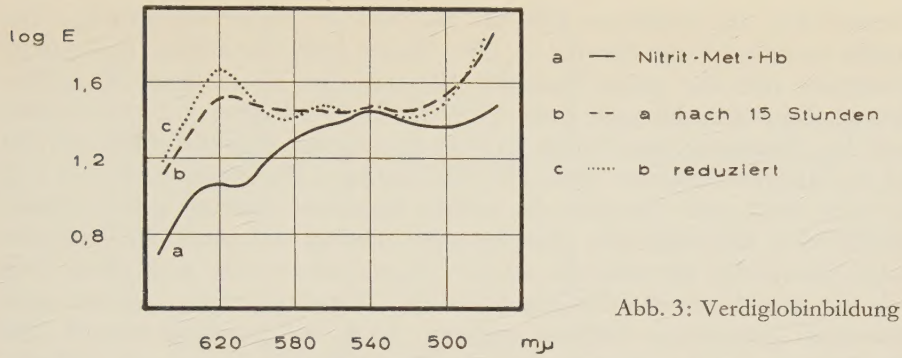

Abb. 3: Verdiglobinbildung

Diese grünen Farbstoffe sind offensichtlich mit dem von *Kiese* angegebenen Verdi- bzw. Verdoglobin-NO_2 identisch. Allerdings gelang es uns nicht, diese Blutfarbstoffderivate in reiner Form mit den oben erwähnten Methoden darzustellen. In jedem Falle war nämlich, auch bei deutlicher Grünfärbung, noch ein Rest von Nitrit-Met-Hb dadurch nachzuweisen, daß nach Reduktion die für das NO-Hb typischen Absorptionsmaxima bei 572,5 mμ und 540 mμ bei spektrophotometrischer Untersuchung auftauchten.

Läßt man die mit Natriumdithionit reduzierte grüne Lösung 1–2 Tage stehen, so geht der Reduktionseffekt verloren. Es kehrt die Absorptionskurve der nicht reduzierten Lösung wieder. Eine Veränderung des Tones der Grünfärbung ist dabei jedoch nicht sicher zu erkennen.

Die weiteren Versuche ergaben, daß die Umwandlung des Nitrit-Met-Hb ins Verdiglobin vom pH, der Art des Puffers und der Nitritkonzentration abhängig ist.

Die Verdiglobinbildung verläuft umso rascher, je höher die *Nitritkonzentration* ist (vgl. *Kiese*). Wurden Nitritlösungen in Konzentrationen von 1, 2,5, 5 und 10% zu gleichen Teilen den Hb-Lösungen zugesetzt, so war nach etwa 2 Std. in den 4 Küvetten eine Farbabstufung von braunrot (bei 1%iger Nitritlsg.) bis grün (bei 10%iger Nitritlsg.) zu beobachten. Die spektrophotometrische Untersuchung ergab dementsprechend, daß in der ersten Küvette die Verdiglobinbildung nach dieser Zeit nur gering war, daß sie in der letzten dagegen den Endpunkt schon annähernd erreicht hatte (Abb. 4).

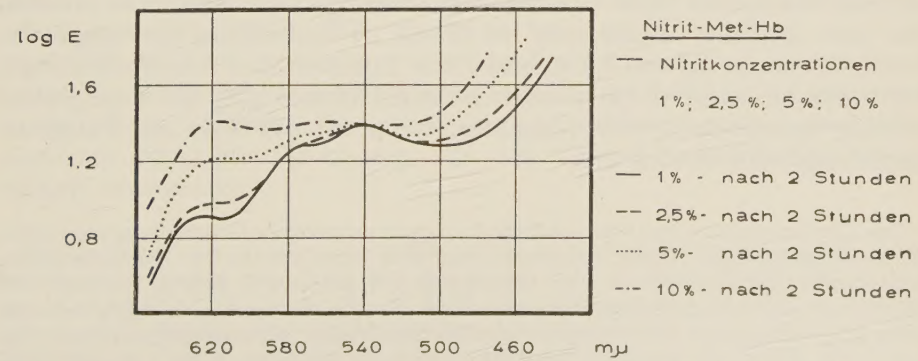

Abb. 4: Geschwindigkeit der Verdiglobinbildung in Abhängigkeit von der Nitritkonzentration

Ferner war ein auffälliger Einfluß der *Art des Puffers* festzustellen. Bei Zugabe von Phosphatpuffer (0,2 m; 20% Puffer, 80% Nitrit-Met-Hb-Lösung) entwickelte sich der grüne Farbstoff viel schneller als in einer Nitrit-Hb-Lösung, die gleiche Mengen eines Veronal-NA-HCl-Puffers (0,1 m) enthielt. Nach dem Versetzen einer Nitrit-Met-Hb-Lösung mit Phosphatpuffer pH 7,0 (0,2 m; Mengenverhältnis Nitrit-Met-Hb-Lösung : Phosphatpuffer = 4 : 1) war nach etwa zwei Stunden die vorher braunrote Lösung grün gefärbt, während eine entsprechende phosphatfreie Lösung, deren pH mit Veronal-Na-HCl-Puffer (0,1 m) ebenfalls auf pH 7,0 gebracht wurde, nach dieser Zeit noch die dem Nitrit-Met-Hb eigentümliche Braunrotfärbung mit nur sehr schwachem grünlichem Farbton aufwies. Auch spektrophotometrisch ließ sich eindeutig in der phosphathaltigen Nitrit-Met-Hb-Lösung ein höherer Verdiglobingehalt als in der phosphatfreien ermitteln (Abb. 5).

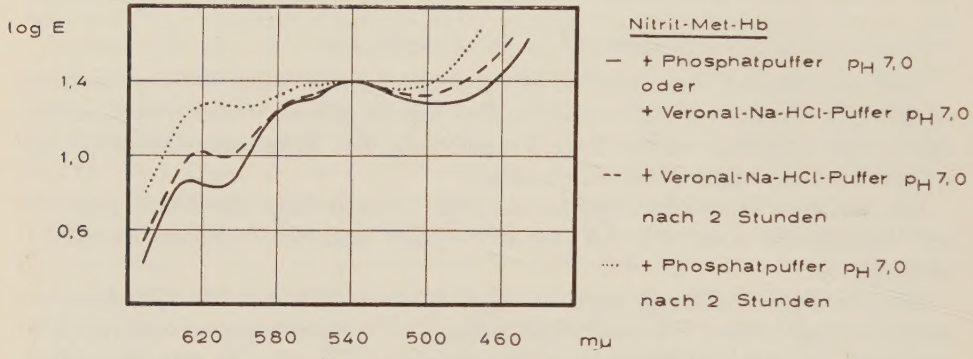

Abb. 5: Geschwindigkeit der Verdiglobinbildung in Abhängigkeit von der Art des Puffers

Auch der *pH-Wert* der Nitrit-Met-Hb-Lösung beeinflußt die Entstehungsgeschwindigkeit des Verdiglobins (vgl. *Kiese*). Verdiglobin-NO_2 tritt bei schwach sauren Werten (pH 6,8) sehr viel schneller in Erscheinung als bei schwach alkalischen (z. B. pH 7,4; siehe Abb. 6). Nach etwa zwei Stunden war eine deutliche Grünfärbung bei pH 6,8 zu beobachten, die Vergleichslösung mit einem pH von 7,4 wies zu dieser Zeit noch die braunrote Farbe des Nitrit-Met-Hb auf. Bei den verschiedenen pH-Werten ging die Verdiglobinbildung wesentlich rascher vonstatten, wenn der pH-Wert mit Phosphatpuffer eingestellt worden war.

Die beim Stehenlassen von Nitrit-Met-Hb-Lösungen aufgetretene Grünfärbung verschwindet meist nach einigen Tagen weitgehend, und zwar umso schneller, je höher die Nitritkonzentration ist. Der Farbton wird bräunlichrot mit grünlichem Beiton. Spektrophotometrisch ist jedoch keine Rückbildung zum Nitrit-Met-Hb festzustellen, es ergibt sich vielmehr eine uncharakteristische, langsam vom Rot zum Violett hin ansteigende Absorptionskurve, wie man sie bei getrübtem Material finden kann. Doch waren die Lösungen meist klar. Eine Sorèt-Bande war nicht nachzuweisen. Nach Reduktion blieb die Absorptionskurve unverändert.

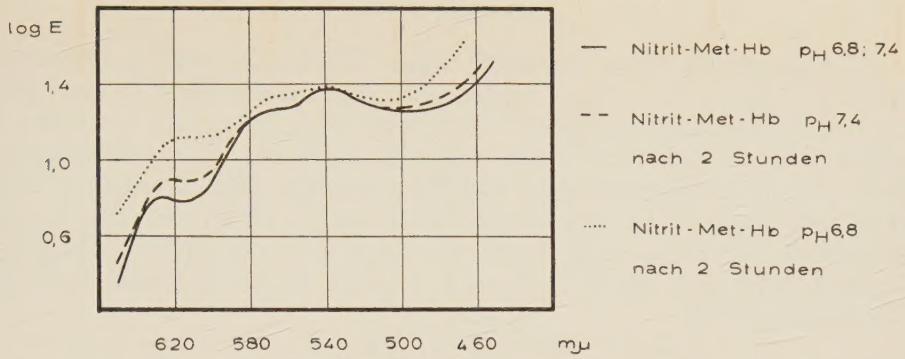

Abb. 6: Geschwindigkeit der Verdiglobinbildung in Abhängigkeit vom pH-Wert

Verdiglobinbildung beim Stehenlassen von NO-Hb-Lösungen

Wie oben beschrieben wurde, wandelt sich NO-Hb beim Stehen in Nitrit-Met-Hb um. Eine Grünverfärbung der aufbewahrten NO-Hb-Lösungen war aber bei unseren Versuchen nur dann zu beobachten, wenn diese Phosphatpuffer enthielten. Doch trat zum Unterschied vom unreduzierten Nitrit-Met-Hb diese Grünfärbung erst nach Tagen auf. Sie war etwas rascher zu erreichen, wenn die NO-Hb-Lösung mit Sauerstoff angereichert wurde. Dies geschah mit Hilfe des Entlüftungsgerätes nach *Weinig*. Die Beschleunigung der Verdiglobinbildung nach Sauerstoffsättigung erklärt sich daraus, daß die Verdiglobinbildung ein Oxydationsvorgang ist (*Kiese*). Wenn man die Lösung mit Stickstoff entlüftet, wird die Verdiglobinbildung dementsprechend stark verzögert.

Einfluß anderer chemischer Substanzen auf Nitrit-Met-Hb

Andere Salze, wie z. B. Kochsalz, Ammoniumoxalat, Kaliumjodid, Kaliumnitrat, Natriumfluorid hatten keinen erkennbaren Einfluß auf die Verdiglobinbildungsgeschwindigkeit. Wir versetzten bei diesen Versuchen je 10 ml Nitrit-Met-Hb-Lösung (Bereitung siehe oben) mit ca. 50–100 mg des jeweiligen Salzes. Der pH-Wert war vorher mit Veronal-Na-HCl-Puffer auf 6,8 eingestellt worden. Nach 2 Stunden war farblich kein Unterschied gegenüber einer phosphatfreien Nitrit-Met-Hb-Lösung, die nur Veronal-Na-HCl-Puffer pH 6,8 enthielt, zu erkennen.

Wie *Jung* u. *Remmer* angaben, verwandelt KCN Nitrit-Met-Hb in Cyan-Met-Hb. Dies können wir bestätigen. 5 ml Nitrit-Met-Hb wurden mit 1 ml Phosphatpuffer pH 6,8 versetzt, zu 4 ml dieser Mischung 1 ml wäßrige KCN-Lösung gegeben. Es bildete sich sofort Cyan-Met-Hb, das an seiner charakteristischen Absorptionskurve nachzuweisen war (vgl. *Heilmeyer*). Bei Zugabe von Dithionit entsteht hieraus auffälligerweise *NO-Hb*. Das Cyan-Met-Hb, das zum Hb reduziert wird, verbindet sich also mit dem noch in der Lösung befindlichen NO, das bei der Reduktion des Nitrits entstand, zum NO-Hb.

Zusammenfassung

Die Existenz des Nitrit-Met-Hb als eigene Verbindung wird durch weitere Befunde erhärtet. Im offenen Reagensglas geht der Farbstoff in eine grün gefärbte Verbindung, vermutlich Verdiglobin-NO_2 über, und zwar um so schneller, je höher die Nitritkonzentration ist. Besonders stark beschleunigend wirkt ferner das Vorhandensein von Phosphationen und außerdem verläuft die Umwandlung im schwach sauren Milieu rascher als im neutralen und im alkalischen. NO-Hb ist nicht beständig. Es geht im offenen Reagensglas in Nitrit-Met-Hb über, später u. U. auch teilweise in einen grünen Farbstoff (Verdiglobin-NO_2).

Summary

The existence of nitrite-met-hb as an individual substance is described. In the test-tube, the pigment changes in a green coloured pigment, which is supposed to be verdoglobin-NO_2. This reaction is so quicker, so higher the concentration of nitrite. Phosphate ions and acid milieu are also accelerating. NO-hb is not stabile. In the test-tube it change to nitrite-met-hb, later on also in a green pigment (verdiglobin-NO_2).

Literatur: Banham, Haldane und Savage: Brit. med. J. *3370*, 187 (1925), (zit. nach Laves). — Betke K.: Der menschliche rote Blutfarbstoff bei Fetus und reifem Organismus, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954. — Haldane J., R. H. Makgill a. A. E. Mavrogordato: The action as poisons of nitrites and other physiologically related substances. J. Physiol. *21*, 160 (1897). — Hartridge H.: Nitrite methaemoglobin and related pigments. J. Physiol. *54*, 253 (1920). — Haurowitz F.: Zur Kenntnis des Methämoglobins und seiner Derivate. Zschr. physiol. Chem. *138*, 68 (1924). — Heilmeyer L.: Medizinische Spektrophotometrie, G. Fischer-Verlag, Jena 1933. — Hermann M.: Arch. Anat. Physiol. u. wiss. Med. *1865*, 469, (zit. nach Lemberg u. Legge). — Hoppe F.: Über das Verhalten des Blutfarbstoffs im Spektrum des Sonnenlichts. Virchows Arch. *23*, 446 (1862). — Jung F. u. H. Remmer: Über die Umsetzung zwischen Nitrit und Hämoglobin. Arch. exper. Path. Pharmakol. *206*, 459 (1949). — Kiese M.: Darstellung und Eigenschaften von Verdoglobinen, Arch. exper. Path. Pharmakol. *204*, 385 (1947). — Kobert R.: 1881, Zit. Nach. — Kobert R.: Beiträge zur Kenntnis der Methämoglobine. Pflügers Arch. Physiol. *82*, 603 (1900). — Laves W.: Über das Vorkommen und das Verhalten des Methämoglobins in der Leiche. Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. *12*, 564 (1928). — Lemberg R. a. J. W. Legge: Hematin compounds and bile pigments. Interscience publishers, INC., New York 1949. — Meier R.: Studien über Methämoglobinbildung. Arch. exper. Path. Pharmakol. *110*, 261 (1925). — Propst A.: Über die Vergiftung mit nitrosen Gasen. Wien. med. Wschr. *1960*, 591. — Schumm O.: Die spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe. G. Fischer-Verlag, Jena 1927. — Schwerd W.: Kohlenoxydbestimmung im Leichenblut. Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. *44*, 249 (1955). — Weinig E.: Die Polarographie im Dienste der Strafrechtspflege. Dtsch. Zschr. gerichtl. Med. *37*, 325. (1943) —

Anschr. d. Verff.: Priv.-Doz. Dr. W. Schwerd u. cand. med. R. Stumpf, Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Universitätsstraße 22.

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, sowie Nachdruck u. fotomech. Wiedergabe vorbehalten.

LEBENSLAUF

Am 26. Juni 1936 wurde ich als zweiter Sohn des Handelsvertreters Walter Stumpf und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Göpel, in Coburg geboren.

Nach vierjährigem Grundschulbesuch wurde ich im September 1946 Schüler der Oberrealschule Ernestinum in Coburg, an der ich die Reifeprüfung im Juli 1954 bestand.

Im Sommersemester 1956 begann ich mit dem Medizinstudium an der Universität Erlangen. Hier legte ich im Oktober 1958 die ärztliche Vorprüfung ab. Im Sommer 1959 studierte ich in Freiburg, im folgenden Wintersemester in Düsseldorf. Im April 1960 kehrte ich nach Erlangen zurück, wo ich am 21. Dezember 1961 die ärztliche Prüfung bestand.